洗浄評価判定ガイドライン

2012 年 8 月

一般社団法人日本医療機器学会　滅菌技士認定委員会
洗浄評価判定の指針を調査・作成するための検討 WG

ガイドライン作成にあたって

2006 年 3 月，日本医科器械学会（現，日本医療機器学会）滅菌技士認定委員会（委員長：小林　寛伊）内に「医療施設における洗浄後の清浄度の現状を調査・把握し，それを踏まえ洗浄後の清浄度の指標（残留蛋白質：μｇ/器械）を検討する．また，洗浄評価判定のための指針（ガイドライン）を作成する」ことを目的とした「洗浄評価判定の指針を調査・作成するための検討 WG」の設置が承認された．

本 WG での調査・検討成績を「洗浄評価判定ガイドライン」（案）としてまとめ，医療施設および関連企業関係者のコンセンサスを得る必要があり，2011 年 12 月 31 日から 2012 年 1 月 31 日まで，日本医療機器学会ホームページに掲載して案に対するパブリックコメントを求めた．

本ガイドラインは現在広く採用されている洗浄方法の基本的な特徴と留意点，および，清浄度の評価方法についてまとめており，日常業務の実施において容易に適用可能であることを目指した．

各種鋼製小物の洗浄を担当する材料部（室）関係者は，本ガイドラインを参照してそれぞれの実情に応じたマニュアルを作成するなどの業務改善を図ることを切望する．

2012 年 7 月

洗浄評価判定の指針を調査･作成するための検討WG

洗浄評価判定ガイドライン

第Ⅰ部　洗浄評価判定方法

洗浄評価判定の指針を調査･作成するための検討WG

1．洗浄の重要性

手術や病棟，外来およびセンターでの処置に使用した剪刀や鉗子などの各種鋼製小物（以下，器械）には，感染性を有する血液などの体液や微細組織片が必ず付着している．これらの器械は高圧蒸気滅菌やEOG滅菌などの工程を経て再使用されるが，確実な滅菌を保証するためには残留した異物が人体に対して影響を与えないように，また，確実に滅菌を保証するためには洗浄によって付着物を可能な限り分解，除去することが重要である．

2．洗浄以前の留意点

汚染した器械は院内各部署で発生するが，現場での洗浄（一次洗浄）は人的，経済的および洗浄の質保証の観点からデメリットが多く，知識と経験が豊富な人材を有する材料部（室）で一括処理をすべきである[1)]．本処理方式では洗浄までの経過時間が必然的に生じ，付着物が乾燥・固着して効果的な洗浄を阻害する危険性があることから，運用の工夫と乾燥防止スプレーの採用などを検討すべきである[2)]．

汚染器械の搬送には先端が鋭利な器械でも貫通しないプラスチックやステンレス製の蓋付き容器（蓋を固定可能なものが望ましい）を用いる．運搬中の転倒など，汚染拡散の危険を考慮すれば，搬送ルートとして人数の多い場所は避けるべきであるが，エレベータの区別をすることや長距離の迂回をする必要はない．

使用した器械などを洗浄以前に消毒薬で処理すること（一次消毒）は汚染物の分解・除去の障害となることからおこなってはならない[3)]．

また，洗浄剤の使用に当たっては，洗浄剤メーカの取扱説明書やラベルに記載されている使用条件を理解して適切に使用する．さらに，洗浄対象となる器械の材質，構造特性に応じて，器械の製造販売元に，それぞれの洗浄方法に対する適用可否について確認が必要な場合もある．

洗浄作業者は液の飛散や感染を予防するため個人防護具（personal protective equipment：PPE）を着用すべきである．

３．効果的に洗浄するための方法別留意点

1）用手洗浄（浸漬を含む）

本法は各種器械の洗浄に我が国で最も多く採用（約50%程度の病院）

され，特にマイクロ手術器械や鏡視下手術器械では高頻度で実施されている．

0.5 から 1%程度に希釈した中性または弱アルカリ性酵素洗浄剤を用い，40 から 45℃に温度管理をすることで安定した洗浄効果が期待できる[4]．内腔を有する器械ではブラッシング操作が不可欠である．ただし，ブラッシング洗浄は作業者により洗浄効果に差が生じやすいことから十分な教育が必要である．浸漬には洗浄物を洗浄液中に確実に沈め，洗浄剤は毎日 1 回以上調整すべきである（両注意事項は超音波洗浄も同様である）．

本法では「すすぎを十分に実施すること」が重要である．すすぎ不良は錆びや変色の原因となる[5]他，汚れの再付着による洗浄不良や残留した洗浄剤による人体や医療機器への悪影響も危惧される．すすぎの判定を従来は泡の存在で判断していたが，近年は低泡性または無泡性の洗剤が一般化したことから，すすぎに十分な水量と時間が必要である（眼科手術後に発症する中毒性前眼部症候群，toxic anterior segment syndrome : TASS，の原因の一つとして洗浄剤成分の残留が報告されている[6]）．

2）超音波洗浄

本法はキャビテーション作用を用いることから，一般的に，洗浄が困難なボックスロック部などに有効であり，また，装置が比較的安価なことから広く普及している．

通常，超音波発振子は洗浄槽底部に設置されており，深度によって超音波の効果が異なる（発振子数によっては，槽内各場所によっても異なる）．したがって，短冊型アルミホイルなどを用いて槽内の超音波効果を確認することが望ましい．大型装置ではスイング機構を有して安定した洗浄効果を得る工夫もなされている．

ゴム類などの柔らかい材質には効果が及ばないため，微細器械の先端保護などの目的でシリコン製マットを敷く，または，キャップなどを施すことは洗浄効果を損なう要因となる．同様に，細いワイヤーを編み込んだ籠の内部にも超音波は到達し難く，ネジ類などはステンレスやガラス容器に入れた洗浄が望ましい．

洗浄時間は 10 分間程度が一般的である．そして，発生した超音波のエネルギーは洗浄液中に熱として蓄積される（装置の種類や蓋の有無などで異なるが，30 分間で約 10℃の上昇）ことから連続運転による温度上昇に留意する[7]．

3）ウォッシャーディスインフェクター（以下，WD）

本法は冷水すすぎ，本洗浄，すすぎ，熱水消毒および乾燥工程の規格化が可能な優れた洗浄装置である．さらに，酵素およびアルカリ性洗浄剤の併用，60 から 90℃での高温洗浄などの各種洗浄プログラムを構築可能であり，効果的な洗浄が期待できる．本装置は噴射循環式を採用していることから，洗

浄剤として無泡性（または，低泡性）を使用する．

一般的なプログラムでの所要時間は 90 分間程度である．汚染器械が多く工程時間の短縮を図る場合でも，冷水すすぎ，本洗浄，すすぎ工程の時間と回数を十分な効果が発揮できる条件に設定すべきである．

本装置は回転するアームから洗浄液を吐出（シャワーリング）させて器械に付着した汚染物を分解・除去することから，器械を過度に重ねたり，膿盆などの広い面積を有するものを重ねた場合などでは洗浄効果が減少する．分解可能な器械は分解し，不可能な器械は開いた状態で積載する．なお，内腔のある医療機器は内腔に送液しながら洗浄がおこなえるよう，工夫することが望ましい．

また，整形外科手術用貸し出し器械類は搬送用コンテナに整然と積載されているが，一般的に搬送用コンテナに設置されているスリット（切り込み）は開放部面積が少なく，十分なシャワー効果が期待できない例が多い．したがって，効果的に洗浄するためには搬入時の器械の種類と数量を記録した後に洗浄用バスケットに移し変えるなどの運用上の工夫が必要である．

なお，本装置の日常のモニタリングと管理，およびバリデーション項目が「医療現場における滅菌保証のガイドライン 2010」に記載されている．

4.　洗浄評価判定方法（直接判定法）

手術や処置に使用した器械に付着する汚染物はヒトに由来することから，洗浄評価判定のための指標物質は当然ながらヒト血液や組織が含有する物質である．ヘモグロビン，アルブミンなどの蛋白質は血液中含有量が多く（血液 100ml 当たりヘモグロビンが約 13 g，アルブミンは約 2 g），さらに，蛋白質測定法の歴史は古く，種々の改良も加えられ簡便なキットも市販されていることから指標物質として蛋白質が最適と思われる．その他，各種ヒト細胞が高濃度に含有するアデノシン三リン酸（以下，adenosine triphosphate：ATP）も利用されている．

洗浄工程終了後の器械に付着している残留物（蛋白質，多糖類，脂質，薬物，など）を目視で確認することは洗浄評価に必須な基本的確認方法である（拡大鏡の使用が望ましい）．

なお，目視により汚染が確認されない器具のみを対象とし，以下 1）～3）に記す各種判定法を用いて判定を行う．

目視による判定は個人差があり，数値化ができなく，また，器械の重なり合った部分や内腔は判定できないなど正確性に劣るが，いつでも，どこでも判定可能である．日常実施している個々の器械の点検やセット組み時に同時に実施すべきである．また，目視以外の方法では，判定後に再洗浄が必要である．

表１　洗浄評価判定方法（試薬），指標物質，特徴および勧告

判定方法	試験方法・試薬	指標物質	特徴	勧告
目視	視認	蛋白質、多糖類 脂質、薬物	簡便であるが個人差がある 数値化が困難	日常的に実施する
色素染色	アミドブラック 10B	蛋白質	簡便に定性値が得られる 「色調表、比色計の使用により （半）定量値が得られる」	必要に応じて実施する （本文、５項参照）
拭き取り	綿球付着物の化学反応	蛋白質	簡便に（半）定量値が得られる が専用試薬と装置が必要	
		ヘモグロビンの POD 様活性		
	生物学的発光法	アデノシン三リン酸		
抽出	CBB 法	蛋白質	正確な定量値が得られるが 手技が複雑で試薬と装置が必要	
	OPA 法			
	BCA 法			

（CBB；Coomassie Brilliant Blue G-250　OPA；o-phthalaldehyde　BCA；Bicinchoninic acid　POD；Peroxidase）

洗浄評価判定方法，指標物質および特徴を以下に解説し，要約を表１に示す.

1）色素染色判定法

洗浄工程終了後の器械に付着している蛋白質に結合する色素（アミドブラック 10B[8)]）と反応させて染色し，判定する方法である.

目視判定法と比較し，蛋白質が青色を呈することから判定が容易である.本法は着色した付着物を目視で判定する方法であるが，蛋白質と結合したアミドブラック 10B 量をアルカリ性溶液で抽出し，その呈色度を吸光光度計などを用いて測定し数値化が可能である（この方法は，内腔を有する器械にも適応できる).

2）拭き取り判定法

洗浄工程終了後の器械全体または一部分を湿潤した綿球（綿棒）で拭き取り，綿球に付着した蛋白質や ATP を綿棒一体型専用試薬と反応させて付着物の量（半定量値，ATP では発光強度）を知る方法である．蛋白質をビューレット変法で測定するキット，ヘモグロビンを蛋白質量ではなく，ペルオキシダーゼ様活性として高感度に測定するキット, ATP をルシフェラーゼの触媒によって発光量として測定するキットが市販されている.

本法は簡便，迅速に成績を得ることができるが，拭き取り操作を要するため，綿球（綿棒）を挿入し難い狭い隙間や内腔などの測定は困難である．結果の比較には拭き取り面積，綿球を押し付ける強度，反応後から測定までの時間などの手技を統一する必要がある.

3）抽出判定法

洗浄工程終了後の器械を水酸化ナトリウム溶液や高濃度の界面活性剤溶液中に浸漬し，内腔部を含めた器械全体に残留している蛋白質を抽出する．この抽出液中の蛋白質をクーマシーブリリアントブルー（coomassie

brilliant blue：CBB，Bradford）法[9,10)], ISO15883-1 に記載されているオルトフタルアルデヒド（o-phthalaldehyde　：OPA）法[11,12)]，ドイツ病院保健衛生協会（DGKH），ドイツ滅菌物供給協会（DGSV），ドイツにおける器械のメンテナンスに関する WG（AKI）が採用したビシンコニン酸（bicinchoninic acid :BCA）法[13,14)] などで測定する方法である．

本法は残留蛋白質を正確に測定可能な基準となりうる方法であるが，抽出と測定に複雑な手技を要し，また，発色液の吸光度を測定するための分光光度計が必要であり，洗浄現場で容易に実施することは困難である．医療用洗浄剤の製造販売元数社が，有償ではあるが本法での残留蛋白質測定を実施しており，これらの利用も合理的である．

5．洗浄評価判定を必要とする場合（目視判定は日常的に実施する）

1）洗浄剤や洗浄工程（洗浄時間やすすぎ回数，など）を検証または変更した場合．
2）超音波洗浄器や WD を更新した場合（点検，調整および修理完了時を含む）．
3）作業者が交代した場合
なお，評価方法は色素染色，拭き取り，抽出判定法のいずれを採用してもよく，年に 1 回以上実施することが望ましい．

6．洗浄評価インジケータの利用（間接判定方法）

現在市販されている洗浄評価インジケータ（以下，インジケータ）一覧を表 2 に示す．蛋白質や色素などをステンレスやプラスチックなどに塗布し，さらに，シャワーリング効果を制約するなど，インジケータ毎に洗浄性について多くの工夫が認められる．

インジケータは，WD における洗剤量やスプレーアームなどの作動状態

表 2　洗浄評価インジケーター一覧

製造・販売元	品名
アムテック（株）	EVIT®　EVIT-SP®
アルフレッサファーマー（株）	ネスコス IC-W・I®
（株）イヌイメデイックス	ピュアチェック®　ピュアチェック®アルカリ ピュアチェック®α
（株）ウドノ医機	ウオッシュモニター®
（株）エムエス	SIMICON-RI®
クリーンケミカル（株）	クリーンチェック®
サクラ精機（株）	STF ロードチェック®
（株）ニチオン	TOSI®　TOSI GOLD®　TOSI LumCheck®

を確認する目的で使用するものである（ただし，統一条件下で洗浄剤の洗浄力比較などは可能である）．多くの場合，塗布物は洗浄され易い成分とされ難い成分とで構成されており，WD が正常運転時でも一部残留する場合がある．この一部残留を異常と捉えるのではなく，通常（一部残留）と異なり中程度または多量残留した場合が WD の作動不良であり点検を実施する．

インジケータは WD の毎回運転時の使用が望ましいが，1 回目運転時／日に使用してもよい．洗浄ラックの何段目に設置するか，洗浄バスケットのどの部位に何個設置するか，など，運用に関する共通の規定はない（これは，WD の運転毎に洗浄物の種類と量が異なることによる）．インジケータの運用と評価は，経済性なども考慮し各施設で決定すべきである．

7. 記　録

洗浄評価の記録は見やすく，また，誰もが簡単に閲覧可能な形式とする．本評価記録とともに洗浄履歴や点検確認記録も関連付けて保管する．点検確認記録はあくまでも作業者による記録であることから，インジケータが一緒に添付されている場合は，記録文章の信頼性が向上する．さらに，インジケータに異常が認められた場合は，それ以前の記録内容を参照することで原因究明に役立つ．

文　献

1) 小林　寛伊，永井　勲，大久保　憲，他．鋼製小物の洗浄ガイドライン　2004　Ⅰ．使用済み鋼製小物の一次洗浄/消毒廃止に向けて．病院サプライ 2004; 9: 32-35
2) 大久保　憲，小林　寛伊，新井　晴代，他．鋼製小物の洗浄ガイドライン　2004　Ⅱ．乾燥した使用済み鋼製小物の有効な汚染除去方法．病院サプライ 2004; 9: 36-41
3) 伏見　了，中田　精三，野口　悟司，他．一次消毒された汚染物の洗浄障害について．医科器械学 2003; 73: 281-289
4) 伏見　了，野口　悟司，船越　文雄，他．酵素洗剤中プロテアーゼ活性の保存安定性および洗浄時温度と洗浄力に関する研究．医科器械学　2000; 70: 648-651
5) 器械の正しいメンテナンス法　第 8 版．日本医科器械学会　メンテナンスマニュアル出版委員会
6) Mamalis N, Edelhauser HE, Dawson DG, et al. REVIEW/UPDATE Toxic anterior segment syndrome. J Cataract Refract Surg 2006; 32:324-333
7) 伏見　了.内視鏡ロボット手術周辺機器の処置（4）内視鏡の効果的な洗浄, 感染制御　2010;6:334-336
8) 原田　陽滋，高橋　毅，他．アミドブラック 10B を使用した，

医療器材のボックスロック部と先端把持部の洗浄効果評価方法の検討，医科器械学　2005;75: 727-728
9) Bradford M M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-254
10) 清水　応健，中田　精三，伏見了，他．医療器具に付着した蛋白質の高感度測定法について．医科器械学　2005;75:28-33
11) Michels W, Frister H, Pahlke H, et al. Testing the cleaning performance of automated decontamination processes for minimally invasive instruments. Hyg Med 1996;21:324-330
12) Fr ister H, Meisel H, Schlimme E. OPA-method modified by use of N,N-dimethyl-2-mercaptoethylammonium-chloride as thiol compound. Fresenius Z Anal Chem 1988;330:631-633
13) Smith, P. K., et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid Anal. Biochem. 1985; 150: 76-85.
14) Guideline Compiled by the DGKH, DGSV, and AKI for Validation and Routine Monitoring of Automated Cleaning and Disinfection Processes for Heart-Resistant medical Devices as well as Advice on Selecting Washer-Disinfectors. Zentral Sterilisation ; 2007; 15: 4-47

洗浄評価判定ガイドライン

第Ⅱ部　洗浄後の残留蛋白質許容値と目標値

洗浄評価判定の指針を調査・作成するための検討WG

はじめに

手術などに使用して患者体液の付着した各種器械の洗浄・消毒・滅菌業務担当者は，より効果的に洗浄するために洗浄方法の改良や工夫を重ねている．

そこで，現時点における清浄度の目標となる具体的な残留蛋白質量を決定すべく調査・検討を実施した．

1. ワーキンググループ（以下，WG）施設における洗浄装置および本洗浄条件

WG 委員施設および協力委員施設における洗浄装置一覧を表 1，本洗浄(洗剤を使用した洗浄）における温度，時間および使用洗剤種を表 2 に示す．ウォッシャーディスインフェクター単独が 3 施設，超音波の併用が 4 施設であった．また，洗浄温度は 30℃から 93℃，洗浄時間が 5 から 15 分間まで分布した．酵素洗浄剤を 3 施設が採用し，アルカリ性洗浄剤は 4 施設であった．

WG 委員施設は大規模病院であることから，超音波を併用した高性能装置使用例が若干多いと思われるが，洗浄温度，洗浄時間，洗浄剤種別では本邦の現状をほぼ反映しており，WG 委員施設での残留蛋白質測定値を洗浄評価判定のための許容値および目標値算定の基準とすることとした．

2. 残留蛋白質抽出および測定方法

10mL の水酸化ナトリウム(0.2mol/L)の入ったポリエチレン製袋に測定対象器械を入れ，50℃に加温

表 1　ワーキンググループ施設における洗浄装置一覧

施設	洗浄装置
A	HAMO T-21 CS®
B	Miele G7836®
C	HAMO T940 CS-US-KY®
D	DEKO 2000E + SAKURA US201SA®
	SAKURA US-87517®
E	HAMO T940 CS-US-KT®
F	HAMO T840 CS®
G	UDONO UKW-D/S®

表2　ワーキンググループ施設における本洗浄条件一覧

施設	条件（温度、時間、洗剤種）	備考
A	WD；60℃、5分間、アルカリ性洗剤	
B	WD；93℃、10分間、アルカリ性洗剤	
C	WD；55℃、5分間、酵素洗剤	予備洗浄時に酵素洗剤を使用
D	WD；48℃、8.5分間、アルカリ性洗剤 US　；30℃、10分間、アルカリ性洗剤	乾燥防止スプレーを使用
	US　；50℃、10分間、アルカリ性洗剤	
E	WD；60℃、10分間、アルカリ性洗剤 US　；30℃、10分間（洗剤未使用）	
F	WD；40℃、12分間、酵素洗剤 US　；50℃、10分間（洗剤未使用）	乾燥防止スプレーを使用
G	WD；40℃、15分間、酵素洗剤 US　；40℃、10分間、酵素洗剤	

（WD；ウオッシャーディスインフェクタ、US；超音波洗浄）

した超音波槽中にて30分間残留蛋白質を抽出した．

1mLの抽出液と3mLのクーマシーブリリアントブルー試薬を混和し，室温で20分間反応させた後に簡易型比色計（測定波長；595nm）にて吸光度を測定して残留蛋白質を求めた（検量線用標準蛋白質にはウシ血清アルブミンを使用した）．

ウシ血清アルブミンを試料とした本法での同時再現性成績を表3に示す．一般的に低濃度域蛋白質を正確に測定することは困難であり，本法においても10.0μg/10mL試料で平均値が9.5μg/10mL，変動係数（%）が10.5と良好であるのに対して，5.0μg/10mL試料では平均値が5.7μg/10mL，変動係数（%）が35.1と平均値が標準液値（秤量値）から離れ，また，大きな分布幅を示した．

表3　ウシ血清アルブミンを試料としたクーマシーブリリアントブルー法の同時再現性成績

標準液（μg/10mL）	測定値（μg/10mL）					平均値（μg/10mL）	標準偏差	変動係数（%）
5.0	7.7	4.3	7.3	6.3	2.9	5.7	2.0	35.1
10.0	9.1	9.4	10.2	10.8	8.0	9.5	1.1	10.5
20.0	19.0	21.3	21.5	19.5	19.6	20.2	1.1	5.4
30.0	28.7	30.9	30.7	30.1	32.0	30.7	1.5	4.9
40.0	39.1	38.2	41.8	42.1	41.7	40.6	1.3	4.4
50.0	47.2	48.5	49.8	47.3	51,2	48.8	1.7	3.5

3．残留蛋白質測定の実際

手術には剪刀や持針器などのボックスロック部を有するもの，吸引用嘴管などの内腔を有するもの，など多種多様な器械が使用されている．これらの中で，鉗子および持針器は使用頻度が高く，また，一般的に洗浄が困難とされている凹凸部とボックスロック部を有することから，両者を残留蛋白質測定用器械に選定した．

WG 委員施設で実際に手術に使用され，かつ，目視にて血液の付着が認められた鉗子と持針器の持ち手部にケーブルホルダーで目印を付け（図 1），表 2 に示した日常使用装置での洗浄終了後に対象器械を選び出して残留蛋白質を測定した．
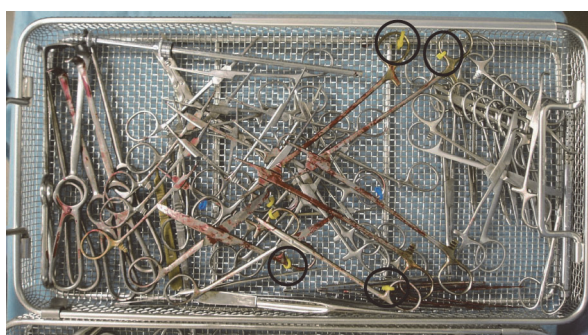
図 1　残留蛋白質測定用鉗子と持針器（○印のついた器械）

4．洗浄後の残留蛋白質測定値

WG 委員施設で 91 個の鉗子と持針器を試料として洗浄後の残留蛋白質を測定した成績を表 4 に示す．20μg/器械以下が 49 個（58.8%），51 から 100μg/器械が 6 個（6.6%），151 から 200μg/器械が 3 個（3.3%）であった．

つまり，本邦における汚染器械洗浄の現状をほぼ反映していると思われるＷＧ委員施設において，洗浄後に 100μg/器械以下の残留蛋白質例が 92.3%であった．

5．考　察

洗浄後の清浄度の指標となる極めて微量な残留蛋白質を正確に測定するためには，回収率に優れた抽出方法と良好な測定感度を有する測定方法が必要である．しかし，医療施設の洗浄現場は少ない人員で非常に多量の汚染器械を洗浄する必要があることから，抽出と測定に複雑な手技や大型装置が必要な方法を採用できない．WG が採用した抽出および測定方法は，小型超音波洗浄装置と簡易型比色計のみで分析が可能なことから，測定手技に熟練を要するものの，多くの医療施設における洗浄現場で実施可能

表 4　WG 委員施設における洗浄後の器械残留蛋白質

残留蛋白質（μg/器械）	例数（%）
≦ 20	49（58.8%）
21～50	29（31.9%）
51～100	6（6.6%）
101～150	4（4.4%）
151～200	3（3.3%）

である．

6．結　論

WG では洗浄方法（装置）に関する調査と解析，および残留蛋白質の抽出と測定についての検討をおこなった．これらの内容をふまえ，一般的な鋼製小物に対する洗浄後残留蛋白質量の許容値と目標値を，以下のように決定した．

許容値	200μg/器械
目標値	100μg/器械

ただし，対象とした器械は 15cm 程度の止血鉗子，持針器であり，内腔を有する器械は該当しない．なお，ドイツ（DGKH,DGSV,AKI）からも Limit value＝200μg，Alarm value＝100μg と器械残留蛋白質に関して同じ勧告が発表されている[1)]．

文　献

1）　Guideline Compiled by the DGKH, DGSV and AKI for Validation and Routine Monitoring of Automated Cleaning and Disinfection Processes for Heat-Resistant Medical Devices as well as Advice on Selecting Washer-Disinfectors Zentral Steril 2007;15:Suppl.2

実験成績

定量管理された汚染物のウォッシャーディスインフェクターによる洗浄能力

洗浄評価判定の指針を調査･作成するための検討WG

はじめに

微生物やウィルスなどの感染性を有する汚染物が付着した各種鋼製小物（以下，器械）を確実に滅菌して再使用するためには，初発菌数を可能な限り減少させること，つまり，洗浄によって高い清浄度を得ることが必須条件である．

ウォッシャーディスインフェクター（以下，WD）は冷水すすぎ，洗剤を使用する本洗浄およびすすぎ工程などの規格化が可能な優れた洗浄装置であり，ワーキンググループ（以下，WG）では定量管理された汚染物，つまり，蛋白質量が正確に塗布された汚染モデルに対するWDの洗浄能力（対数的減少能力）を評価することとした．

1. 汚染モデル基材

ステンレス製土台板（220×120mm）にステンレス製メッシュ（200×90mm，メッシュ1辺2mm）を載せ，その上から5本のステンレス製押さえ板（120×8mm）にて両端をビスで土台板に固定した．

2. 塗布用血液

塗布用血液として100mL当たり500単位のヘパリンを含むヒツジ血液（日本バイオテクト研究所）を使用した．本血液中の蛋白質濃度は電子天秤（AW-220，島津製作所）にて正確に秤量した0.2gを試料として，オルトフタルアルデヒド法（以下，OPA法）にて3重測定をおこない，その平均値から算定した．予備実験を含め4回購入分の蛋白質濃度（g/100mL）は10.4，12.2，15.5，17.2であった．

3. 洗浄試験用血液塗布汚染モデル

2g相当分のヒツジ血液（蛋白質濃度が10.4g/100mLの血液の場合，19.3mL）を目盛りつきガラスピペットで採取し，汚染モデル基材に均一に塗布した（図1）．その後，ビニール製袋
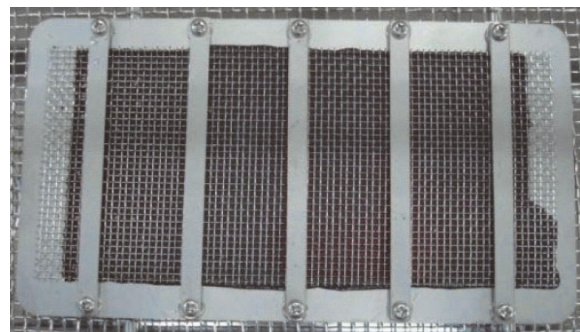
図１　2gの血液を塗布した汚染モデル

（200×300mm）に挿入し，卓上型ノズル式脱気圧着装置（V-301，富士インパルス社）にて脱気と開口部の圧着をおこなった．

4. 汚染モデルからの蛋白質回収率

洗浄後の汚染モデルを 10mL の水酸化ナトリウム（0.2mol/L）の入ったポリエチレン製袋に入れ，50℃に加温した恒温槽に 120 分間浸漬し，残留蛋白質を抽出することとした．しかし，汚染モデルは 220×120mm と大型であることから，本抽出条件の正確性を検討した．

25，50，100μg/mL のウシ血清アルブミン溶液 1mL を汚染モデルに塗布し室温で乾燥させた後に抽出し，クーマシーブリリアントブルー法にて蛋白質を測定して，回収率を求めた成績を表 1 に示す（5 重測定）．回収率は 97.4%から 99.2%と良好であることを確認した．

5. WG 委員施設での洗浄条件と洗浄結果

WG 委員施設および協力委員施設は 7 施設であるが，汚染モデル塗布蛋白質が 2g と多量であることから冷水すすぎ時に多量の泡が発生し，WD 内蔵循環ポンプに対する悪影響が危惧され，さらに，ヒツジ血液塗布汚染モデルを洗浄することについての施設承認の困難さなどを考慮して 4 施設で洗浄を実施した．4 施設での洗浄条件を表 2 に示すが，これらの条件は本邦における一般的な洗浄方法である．

図 1 に示した汚染モデルのみを洗浄用バスケットの中央に設置し，装置専用洗浄ラックの中段（3 段ラックでは下から 2 段目，4 段ラックでは下から 3 段目）の左側に積載し，それぞれ 3 回洗浄した．4 施設での洗浄後に汚染モデルに残留していた蛋白質測定成績を表 3 に示す．平均残留蛋白質は 4 施設でそれぞれ 16.0, 29.7, 28.3, 68.7 μg であった．

6. 定量管理された汚染物の WD による洗浄能力

汚染モデルに塗布したヒツジ血液蛋白質量は 2g，つまり，2,000,000μg である．3 重測定の平均値から計算すると A 施設では洗浄によって蛋白質を 1/125,000，同様に B 施設では 1/67,340，C 施設で 1/70,671，そして D 施設では 1/29,112 まで減少させた．

表 1 汚染モデル塗布蛋白質の回収率

塗布量（μg）	測定値（μg）	平均値（μg）	回収率（%）
25	25　24　23　24　26	24.4	97.6
50	48　51　53　48　48	49.6	99.2
100	99　98　96　99　95	97.4	97.4

表 2 WG4 施設での洗浄条件

施設	予備洗浄	本洗浄（温度、時間、洗剤種）	すすぎ	備考
A	3 分間、1 回	60℃、5 分間、0.5%アルカリ性洗剤	1 分間、2 回	
B		93℃、10 分間、0.3%アルカリ性洗剤	1 分間、3 回	酵素洗剤での事前浸漬 36℃、5 分間
C		40℃、5 分間、0.5%アルカリ性洗剤	1 分間、1 回	
D	3 分間、3 回	93℃、10 分間、0.5%アルカリ性洗剤	1 分間、3 回	

表 3 定量管理された汚染モデルの洗浄成績

施設	残留蛋白質（μg）
A	21 14 13 （平均値：16.0）
B	20 37 32 （平均値：29.7）
C	28 26 31 （平均値：28.3）
D	97 58 51 （平均値：68.7）

残留蛋白質の全体平均値が 35.7μg であり，この成績を基に計算すると WD による汚染物の洗浄効果は 1/56,022 であった.

つまり，WG の調査において「**WD は汚染物に対して約 5Log の対数的減少能力**」を有していた.

洗浄評価判定ガイドライン

初版 2012年8月15日

発行 一般社団法人日本医療機器学会

〒113-0033 東京都文京区本郷 3－39－15

電 話 03（3813）1062 FAX 03（3814）3837

ＵＲＬ：ｈｔｔｐ：／／ｗww. ｊｓｍｉ．ｇｒ. ｊｐ